

学位授与番号	医博甲第1421号
学位授与年月日	平成12年3月31日
氏 名	多 田 吾 行
学位論文題目	虚血性神経細胞死におけるミトコンドリアを介したアポトーシス経路の関与
論文審査委員	主 査 教 授 山 下 純 宏
	副 査 教 授 加 藤 聖
	教 授 須 田 貴 司

内容の要旨及び審査の結果の要旨

げっ歯類から霊長類に至るまで、一過性脳虚血の3、4日後には海馬CA1領域の神経細胞が遅発性の細胞死をきたすことはよく知られている。近年、試験管内の実験系ではアポトーシスによる細胞死にミトコンドリアを介した経路が働いているとされている。本研究では、霊長類の虚血性神経細胞死のメカニズムを明らかにするために、ニホンザルの一過性全脳虚血モデルを用いて、海馬CA1領域でのカスパーゼ-3、カスパーゼ-9およびチトクロームCの発現を、イムノブロット法と免疫組織化学的手法を用いて検討した。同時に、TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling) 法を用いてアポトーシス細胞の局在を同定し、カスパーゼ-3については遺伝子の発現変化をシーケンスディテクターを用いて定量的に検索した。

得られた結果は以下の如く要約される。

1. 霊長類の脳虚血モデルにおいても、カスパーゼ-3とカスパーゼ-9の活性化が虚血後24時間の時点で示された。
2. カスパーゼ-3は、イムノブロットでミトコンドリアからの放出は認められず、経時的な発現量の変化もほとんどなかったが、mRNAの発現量は虚血後に有意に増加していた。免疫組織化学では、虚血後24時間で神経細胞の核と細胞質に陽性所見が認められた。
3. カスパーゼ-9とチトクロームCは共にイムノブロットでは、虚血後24時間でミトコンドリアから放出され、虚血後72時間で共に蛋白の発現量が有意に減少していた。また、免疫組織化学では神経細胞の核と細胞質に陽性所見が認められた。
4. 虚血後72時間で海馬CA1領域の神経細胞は、ほとんどすべてが変性しており多くがTUNEL陽性であった。

以上の結果より、一過性全脳虚血後に生じるサル海馬CA1領域の遅発性神経細胞死において、カスパーゼ-9とチトクロームCがミトコンドリアから放出され、チトクロームCによるカスパーゼ-9の活性化、および活性型カスパーゼ-9によるカスパーゼ-3の活性化により神経細胞死が生じることが示唆された。

本研究は、霊長類の虚血モデルにアポトーシスが関与し、そのカスケードにおいてミトコンドリアが重要な役割を担っていることを明らかにしたものであり、神経科学の発展に寄与する価値ある労作と評価された。